

PRODUCTION OF CLATHRATE COMPOUND OF COENZYME Q10

Patent Number: JP56109590

Publication date: 1981-08-31

Inventor(s): YONEZAWA YASUO; others: 03

Applicant(s): ZERIA SHINYAKU KOGYO KK

Requested Patent: JP56109590

Application Number: JP19800012586 19800205

Priority Number(s):

IPC Classification: C12P 1/66

EC Classification:

Equivalents:

Abstract

PURPOSE: One mole of coenzyme Q10 is included in 1mol of beta- or gamma-cyclodextrin to form a water-soluble clathrate, resulting in coenzyme Q10 with increased stability to light and oxygen in the air.

CONSTITUTION: To an aqueous saturated solution of beta- or gamma-cyclodextrin, is added a solution of 1mol of coenzyme Q10/mol of the cyclodextrin in ether, iso-octane or their mixture and they are stirred. Then, the solution is stood under cooling to 5 deg.C. The precipitate is filtered and dried with air or under reduced pressure to give a powder, that is, the objective clathrate. The resultant clathrate is identified by differential thermal analysis and melting point. In the differential thermal analysis of coenzyme Q10, a sharp endothermal peak caused by melting is observed near to 50 deg.C.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑨ 日本特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭56-109590

⑥) Int. CL³
 C 12 P 7/66

識別記号 廣内整理番号
 6760-4B

⑩) 公開 昭和56年(1981)8月31日

発明の数 1
 番査請求 未請求

(全 3 頁)

⑤) 補酵素 Q₁₀ の包接化合物の製造方法

⑥) 特 願 昭55-12586
 ⑦) 出 願 昭55(1980)2月5日
 ⑧) 発明者 米沢保雄
 東京都板橋区前野町4-23-31
 第一福寿荘2号
 ⑨) 発明者 松田和夫
 上尾市大字小敷谷77-1西上尾

第二閉地 1-27-102

⑩) 発明者 高木要
 多摩市和田1261-29-404
 ⑪) 発明者 篠川英雄
 横浜市緑区美しが丘2-44-3
 ⑫) 出願人 ゼリア新薬工業株式会社
 東京都中央区日本橋小舟町10番
 11号
 ⑬) 代理人 弁理士 山田恒光

明細書

1. 発明の名称

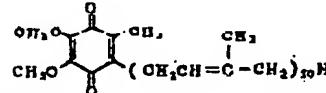
補酵素 Q₁₀ の包接化合物の製造方法

2.特許請求の範囲

1) 補酵素 Q₁₀ 1 モルに対し β- 又は α- デキストリン 1 モルを包接せしめることを特徴とする補酵素 Q₁₀ の包接化合物の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

補酵素 Q₁₀ (Coenzyme-Q₁₀, Ubiquinone-50) は、呼吸酵素系 (電子伝達連鎖) において重要な役割を演ずる物質であり、次のような構成を有している。



前記補酵素 Q₁₀ は、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH₂)、こはく酸、チトクロームと、エレクトロントランスポートパーティクル (electron transport particle; ETP) を形成して電子伝遞を行ふ。また、前記補酵素 Q₁₀ は生理的物質であるが化学合成によつても作られ、

生化学試薬として使われると共に医薬品 (循環系改善薬) としても用いられている。

補酵素 Q₁₀ は、以上のように有用な物質であるが、水に不溶性であるため、液剤 (内服液、注射液) として用いる際には種々の界面活性剤により可溶化している。然し乍ら、界面活性剤を人体に投与することは、特に注射剤としての場合において肝血作用が問題となる。本発明は界面活性剤を使用することなしに水に溶解し得る製剤、即ち、人体投与において害のない液剤を提供しようとするものである。従来、不溶性化合物の可溶化法の一つとしてシクロデキストリンによる包被化が提案されており、また、キノン類の包接化についても既に知られている (Chem. Ber., 92, 378 (1957)) がその組成や可溶化効果に関しては全く知られていない。本発明において用いるシクロデキストリンは澱粉または澱粉加水分解物にシクロデキストリングリコシルトランスマヌラーゼ (Cyclodextrin Glycosyltransferase : CGTase) を作用させ

(1)

(2)

て得られる物質であり、 α -、 β -及び γ -体が一般に知られており、各々、D-グルコピラノースの5-, 7及び8個が環状に α -1, 4結合したものである。

本発明者等はこのようなシクロデキストリン類がその環状構造内に他の物質(ゲスト)を包接せしめる性質を有することを考慮し、補酵素Q₁₀と β -または γ -シクロデキストリンとを反応せしめて得られる包接化合物が水に可溶性となることを見出した。

本発明により得られる包接化合物は示差熱分析及び融点測定法などの方法により確認される。即ち、示差熱分析において補酵素Q₁₀の場合は50℃附近に融解による脱い吸熱ピークが観察され、276℃より重量減少を伴う分解が見られる。また、補酵素Q₁₀とシクロデキストリンとの各等モルの単なる混合物の場合も50℃に補酵素Q₁₀の融解による吸熱ピークが認められるが、本包接化合物ではこのような補酵素Q₁₀に基づく吸熱ピークは消失し融解点は上昇する。また、本

(3)

加え、これにシクロデキストリン1モルに対し約1モルの補酵素Q₁₀を、エーテル、アセトンまたはイソオクタンもしくはそれらの混合液に溶解したものを加えてペースト状とする。その後、得られたペースト状物質を通気、減圧または凍結乾燥などの適当な方法により乾燥させて粉末とし目的の包接化合物を得る。

以下に実施例を示して本発明を詳細に説明する。

実施例 1

補酵素Q₁₀ 4.3gをエーテル・アセトン混液(6:4)20mlに溶解し、この溶液を、 γ -シクロデキストリン(日本食品化工製、以下省略)5.6gを水300mlに溶解した溶液に搅拌しながら加える。1~5時間搅拌を続けた後、数時間40℃に保持して有機溶媒を飛散させる。その後、溶液を約5℃に保持し、生成した沈殿を汎取し風乾後、アセトンで洗浄し減圧下で乾燥して γ -シクロデキストリン・補酵素Q₁₀包接化合物(γ -CD・Q₁₀)8g(収率:80.8%)を得た。

(5)

包接化合物に α -アミラーゼを作用させてそのシクロデキストリン部分を分解した後、シクロデキストリン構成単位であるグルコースの量をソモジーネルソン(Somogyi-Nelson)法で測定し、一方、包接されていた補酵素Q₁₀の量を吸光光度法(400nm)で測定した結果、本包接化合物はシクロデキストリンと補酵素Q₁₀が1:1のモル比で結合していることが認められた。

本発明の水に可溶な包接化合物を製造する方法においては飽和水溶液法及び混練法の何れをも採用し得る。即ち、飽和水溶液法においては用いるシクロデキストリンの飽和水溶液に、シクロデキストリン1モルに対し約1モルの補酵素Q₁₀をエーテル、アセトンまたはイソオクタン、もしくはそれらの混合液に溶解したものと加えて搅拌する。その後、溶液を約5℃に冷却して放置し、生成した沈殿を汎取し、通気、減圧などの適当な方法により乾燥させて粉末化し目的の包接化合物を得る。また、混練法においては、用いる γ -シクロデキストリンに1~3倍量の水を

(4)

示差熱分析: 82~110℃で徐々に融解、290℃以上で分解。特性赤外線吸収: 3400(OH), 2900(CH), 1640, 1150, 1015。

実施例 2

γ -シクロデキストリン10gに水20mlを加え数分間混練して得たペーストに、補酵素Q₁₀ 8gをエーテル・アセトン混液(4:6)30mlに溶解した溶液を少量ずつ加えながら混ぜ合せ約8時間練り合わせる。その後、混練物を約30℃で風乾し粉砕した後アセトン・水混液(7:3)で洗浄し減圧下で乾燥して包接化合物(γ -CD・Q₁₀)15g(収率:83%)を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例1と同じ。

実施例 3

補酵素Q₁₀ 2.8gをエーテル・アセトン混液(6:4)15mlに溶解し、この溶液を、 γ -シクロデキストリン(日本食品化工製、以下省略)4gを水17mlに溶解した溶液に搅拌しながら少しずつ加える。3~5時間搅拌を続けた後、数時間約40

(6)

てに保持して有機溶媒を蒸散させ、以下実施例 1 と同様に処理してアーシクロデキストリン・補酵素 Q₁₀ 包接化合物 (τ -CD・Q₁₀) 5.4 g (收率: 79.4%) を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例 1 と同じ。

実施例 4

アーシクロデキストリン 5 g に水 5 mL を加え数分間混練して得たペーストに、補酵素 Q₁₀ 3.5 g をエーテル・アセトン混液 (4:6) 10 mL に溶解した溶液を少量ずつ加えながら攪拌させて約 6 時間練り合わせる。その後、澄明物を約 30 ℃ で風乾し粉碎した後アセトン・水混液 (8:2) で洗浄し、以下実施例 2 と同様に処理して包接化合物 (τ -CD・Q₁₀) 6.8 g (收率: 80%) を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例 1 と同じ。

上記実施例 1 ～ 4 より得られた包接化合物はいずれも水に可溶であり、内服液、注射液とし (7)

0.2% 水溶液を作成し、25 ℃ で 1000 ルックスの光を照射した後、グーアミラーで処理し、遊離した補酵素 Q₁₀ をエーテルで抽出し、グリーン (Green) らの方法 [Advance in Enzymology, 25, 275 (1963)] に従って補酵素 Q₁₀ の量を測定した。その結果、包接化合物は表 II に示す如く光に対して優れた安定性を示した。

表 II 補酵素 Q₁₀ の残存率 (%)

試料	照射時間 (h)	0	2	4	6	8	10
補酵素 Q ₁₀ (対照)	100	90	88	84	80	70	
β -CD・Q ₁₀	100	98	98	94	91	85	
τ -CD・Q ₁₀	100	98	98	98	98	98	

実験例 3

実験例 2 と同様の溶液に、20 ℃ で、流量を一定にして空気を吹き込んだ後、グーアミラーで処理し、以下実験例 2 と同様にして補酵素 Q₁₀ の量を測定した。その結果、包接化合物は表 III に示す如く空気酸化に対し優れた安定性を示した。

(9)

特開昭 56-109590(3)

て好適に使用できる。また、前記包接化により、補酵素 Q₁₀ は光及び空気中の酸素に対して安定となる。以下に本発明の方法により製造した包接化合物の可溶化効率と、それに伴なう安定化効果を実験例にて詳細に説明する。

実験例 1

包接化合物 (β -CD・Q₁₀ 及び τ -CD・Q₁₀) の水及び生理食塩水に対する溶解度は表 I に示すとおりである。

表 I 溶解度 (g/100 mL), 25 ℃

試料	溶媒	水	生理食塩水
補酵素 Q ₁₀ (対照)		0	0
β -CD・Q ₁₀		0.2	0.18
τ -CD・Q ₁₀		1.40	1.24

また、溶液中に尿素を添加することによって包接化合物の溶解度を上昇させることができる。

実験例 2

包接化合物 (β -CD・Q₁₀ 及び τ -CD・Q₁₀) (8)

表 II 補酵素 Q₁₀ の残存率 (%)

試料	通気時間 (h)	0	2	4	6	8	10
補酵素 Q ₁₀ (対照)	100	80	74	70	61	55	
β -CD・Q ₁₀	100	94	91	90	87	82	
τ -CD・Q ₁₀	100	99	99	99	98	98	

実験例 4

包接化合物 (β -CD・Q₁₀ 及び τ -CD・Q₁₀) を粉末のまま 60 ℃ に保ち、一定時間ごとに試料の一定量を採取して水に溶解し、グーアミラーで処理し、以下実験例 2 と同様に処理して補酵素 Q₁₀ の量を測定した。その結果、包接化合物は表 IV に示す如く荷重経時試験で優れた安定性を示した。

表 IV 補酵素 Q₁₀ の残存率 (%)

試料	経過日数 (d)	0	10	20	30
補酵素 Q ₁₀ (対照)	100	90	85	74	
β -CD・Q ₁₀	100	96	92	91	
τ -CD・Q ₁₀	100	99	99	97	

(10)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.